

# ЭКЗОСОМЫ СЕНЕСЦЕНТНЫХ МЕЗЕНХИМАЛЬНЫХ СТВОЛОВЫХ КЛЕТОК УСИЛИВАЮТ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ МАКРОФАГОВ: МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ ПОЛЯРИЗАЦИИ

Калиш С.В., Лямина С.В.

ФГБОУ ВО «Российский университет медицины» Минздрава России, Москва, Россия

**Введение.** Межклеточная коммуникация посредством экзосом играет ключевую роль в регуляции иммунного ответа и регенеративных процессов. Мезенхимальные стволовые клетки (МСК) известны своими иммуномодулирующими свойствами, однако влияние сенесцентных изменений МСК как компонента процесса старения на функциональную активность иммунных клеток - макрофагов через экзосомальные механизмы остается малоизученным. **Цель.** Определить влияние экзосом, выделенных от МСК с / без признаками сенесцентных изменений, на экспрессию генов, ассоциированных со старением, воспалением и поляризацией макрофагов человека. **Материалы и методы.** МСК были выделены из жировой ткани доноров и культивированы по стандартному протоколу в бессывороточной культуральной среде. Сенесцентные изменения МСК были индуцированы окислительным повреждением ( $H_2O_2$ , 200 мкмоль/1 час). Экзосомы выделяли из кондиционированной среды и инкубировали с макрофагами в течение 24 часов в стандартных условиях. Экспрессию генов p16, p21, IL-6, IL-8, TGF-1 $\beta$ , MCL1 и SEBPB в макрофагах определяли методом ОТ-ПЦР. Выбор референсного гена GUSB обусловлен подтвержденными минимальными изменениями его экспрессии в стареющих клетках. **Результаты.** Со-культивирование макрофагов с экзосомами сенесцентных МСК способствовало значительному повышению экспрессии маркеров клеточного старения p16 и p21 - в 2,4 и 2,8 раза, соответственно, в сравнении с эффектом экзосом МСК без признаков сенесцентности. Наиболее выраженные изменения наблюдались для экспрессии провоспалительных цитокинов IL-6 и IL-8 - увеличение в 6,7 и 8,3 раза, соответственно. Экспрессия антиапоптотического фактора MCL1 была повышена в 8,1 раза, а транскрипционного фактора SEBPB – в 4,3 раза. При этом уровень TGF-1 $\beta$  возростал менее значительно (в 1,7 раза). Экзосомы несенесцентных МСК не вызывали существенных изменений в экспрессии исследуемых генов. **Заключение.** Экзосомы сенесцентных МСК способствуют формированию провоспалительного фенотипа макрофагов, о чем свидетельствует значительное повышение экспрессии IL-6 и IL-8. Одновременное увеличение экспрессии маркеров клеточного старения указывает на возможный механизм передачи сенесцентного фенотипа от МСК к макрофагам посредством экзосом, что может являться потенциальным молекулярным механизмом развития хронического воспаления и возраст-ассоциированных заболеваний.

# EXOSOMES FROM SENESCENT MESENCHYMAL STEM CELLS ENHANCE PRO-INFLAMMATORY ACTIVITY IN MACROPHAGES: MOLECULAR MECHANISMS OF POLARIZATION

Kalish S.V., Lyamina S.V.

Russian University of Medicine, Moscow, Russia

**Background:** Intercellular communication via exosomes plays a key role in regulating immune responses and regenerative processes. While mesenchymal stem cells (MSCs) are known for their immunomodulatory properties, the effects of senescent MSCs-as a component of the aging process-on the functional activity of immune cells, particularly macrophages, through exosomal mechanisms remain poorly understood. **Objective:** To determine the effect of exosomes isolated from MSCs with and without senescent characteristics on the expression of genes associated with aging, inflammation, and polarization in human macrophages. **Materials and Methods:** MSCs were isolated from donor adipose tissue and cultured using standard protocols in serum-free medium. Senescent changes in MSCs were induced by oxidative stress ( $H_2O_2$ , 200  $\mu$ mol for 1 hour) following established procedures. Exosomes were isolated from conditioned medium by ultracentrifugation and incubated with macrophages for 24 hours under standard culture conditions. Gene expression of p16, p21, IL-6, IL-8, TGF- $\beta$ 1, MCL1, and CEBPB in macrophages was analyzed by RT-PCR. The reference gene GUSB was selected based on its confirmed minimal expression variation in senescent cells. **Results:** Co-culture of macrophages with exosomes from senescent MSCs led to significant upregulation of cellular senescence markers p16 and p21 (2.4-fold and 2.8-fold increases, respectively) compared to exosomes from non-senescent MSCs. The most pronounced changes were observed in pro-inflammatory cytokine expression, with IL-6 and IL-8 increasing 6.7-fold and 8.3-fold, respectively. Expression of the anti-apoptotic factor MCL1 was elevated 8.1-fold, while the transcription factor CEBPB increased 4.3-fold. TGF- $\beta$ 1 levels showed a more modest increase (1.7-fold). Notably, exosomes from non-senescent MSCs did not induce significant changes in the expression of any genes studied. **Conclusion:** Exosomes derived from senescent MSCs promote a pro-inflammatory phenotype in macrophages, as evidenced by substantial increases in IL-6 and IL-8 expression. The concurrent upregulation of cellular senescence markers suggests a potential mechanism for transferring the senescent phenotype from MSCs to macrophages via exosomes, which may represent a molecular pathway underlying the development of chronic inflammation and age-associated diseases.